(Aus der physiologisch-chemischen Anstalt
der Universität Basel)

Zur
Energetik der Aussalzung

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der

Doktorwürde

der hohen medizinischen Fakultät

der Universität Basel

vorgelegt von

Eugen August Hafner, med. pract.
aus Zürich

Verlagsbuchhandlung Julius Springer in Berlin W 9
1927

Genehmigt von der medizin.
Fakultät der Universität
Basel auf Antrag von
Herrn Prof. Spiro.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Sonderabdruck aus der Biochem. Zeitschrift Bd. 188, Heft 4/6.

Seinem hochverehrten Lehrer

Herrn Professor Dr. K. Spiro

zur Feier seines 60. Geburtstages, am 24. Juni 1927,

ergebenst zugeeignet

von seinem Schüler E. A. Hafner

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41545822_0051

Inhalt.

		Seite
I.	Einleitung	259
II.	Die Ammonsulfataussalzung von Phenol und deren Beeinflussung durch Nichtelektrolyte	261
III.	Über die Elektrolytkonzentration bei der Aussalzung der Eiweißkörper	264
IV.	Zur Theorie der Aussalzung	268
V.	Literatur	269

I.

Das Aussalzen ist schon mannigfach Gegenstand verschiedenster Untersuchungen gewesen.

Die ersten Versuche gehen wohl bis in die fünfziger Jahre des vorigen Jahrhunderts zurück. Aber erst durch die Arbeiten von *Franz Hofmeister* (1)(2)(3) und seinen Schülern: Zur Lehre von der Wirkung der Salze aus den Jahren 1888 und folgenden, wurden rationelle und systematische Gedanken in das bis dahin mehr empirisch und zufällig bearbeitete Gebiet getragen.

Während *O. Nasse* (4) auf spezifische Beziehungen des Salzes zu den ausgefällten Substanzen hinwies, gelang es *Franz Hofmeister*, zu zeigen, daß die aussalzende Kraft einer Salzlösung, die Gefrierpunkts- und Dampfdruckerniedrigung, die Diffusionsgeschwindigkeit, die innere Reibung, die plasmolytische Wirksamkeit und die Dissoziation offenbar ursächlich zusammenhängen, und zwar in dem Sinne, daß alle diese Erscheinungen auf eine einzige Eigenschaft, auf das Wasseranziehungsvermögen der Salze zurückgeführt werden konnten.

Quantitative Versuche zur Aussalzung wurden dann besonders von *K. Spiro* (5)(6) ausgeführt und das Aussalzen zuerst als Löslichkeitsbeeinflussung vom Standpunkt des Verteilungssatzes und der *Gibbs*schen Phasenregel aufgefaßt. Die Löslichkeitstheorie des Aussalzens von *K. Spiro*

hat dann in der Folge eine exakte thermodynamische Ausgestaltung durch *Nernst* (7), *Griesbach* (8), *Schilow* (9) und andere erhalten und dadurch ihre Leistungsfähigkeit zur Beschreibung der quantitativen Verhältnisse erneut bewiesen.

Weiter zurück reichen Versuche von *Panum*, *Kühne*, *Alex. Schmidt*, *Hoppe-Seyler* und *Weyl*, die verschiedene Aussalzbarkeit der Eiweißkörper zu ihrer Trennung und Charakterisierung zu verwenden. Durch die Arbeiten von *O. Hammarsten*, *G. Kauder*, *Pinkus*, *K. Spiro* und *Porges* (10) wurde die Aussalzung als quantitative Methode in das analytische Laboratorium des Biochemikers eingeführt und gehört seither zu den meistgebrauchten Verfahren, die uns die Bestimmung und nähere Charakterisierung der Eiweißkörper ermöglichen.

Durch die Einführung der Aktivität in die physikalische Chemie der Lösungen als thermodynamische Funktion durch *Gilbert Newton Lewis* (15) ist auch unsere Auffassung von der Aussalzung erweitert und vertieft worden. Besonders durch *Brönsted* (11) in seinen schönen Studien über Löslichkeit, durch *Bjerrum* (12), *Harkins* (13), *Debye* (14) und seine Schule ist die Lehre von der Ionenaktivität weiter ausgearbeitet worden.

Die Energetik der Aussalzung befindet sich heute noch in ihren ersten Anfängen. Die aussalzenden Systeme erfahren hierbei Energieänderungen der verschiedensten Art und Größe; verschiedene Energiegefälle greifen ineinander, so daß es heute noch nicht gelingt, diesen komplexen Vorgang vollständig und so umfassend analytisch darzustellen, derart, daß auch die vielen Ausnahmen, die auf diesem Gebiet beinahe die Regel sind, sich ohne weitere Hilfshypothesen in die Theorie einordnen ließen. Bei der Aussalzung verändert sich nicht nur die Größe, sondern auch die qualitativ-konstitutive Beschaffenheit der Grenzflächen, die Änderung der Grenzflächenenergien ist also doppelter Art: sowohl Grenzflächenkapazität wie Grenzflächenintensität nehmen ab. Ein Teil dieser Energie erscheint in Form der Aussalzungswärme, die, soweit wir bis jetzt sehen, meist positiv ist. Aber die Aussalzungswärme ist nicht nur der Ausdruck der Abnahme der Grenzflächenenergie, sondern auch die Quellungswärme des ausgesalzenen Stoffes, die Adsorptions- und Hydratationswärme der ausgesalzenen Ionen sind integrierende Bestandteile der als Ganzes gemessenen Aussalzungswärme. Auch die elektrische Aussalzungsarbeit läßt sich bis heute nur qualitativ überschauen. Die freie Energie der Ionen in diesen hochkonzentrierten Lösungen, meist handelt es sich um Ganz- oder Halbsättigung, ist bis heute noch nicht bekannt, so daß auch diese Seite der Aussalzung nur einer vorläufigen Behandlung zugänglich ist. Messungen an solchen konzentrierten Lösungen liegen nur vereinzelt und unvollständig vor, so daß nicht einmal etwas Sicheres über die Größenordnung der Aussalzungsarbeit der Ionen ausgesagt werden könnte.

Mindestens so komplex ist auch die Kinetik der Aussalzung. In den nicht sichtbaren, höchstens ultravisiblen Stadien der Aussalzung

findet eine Ordnung, Dehydratation, Translationsbewegung und Aggregation der Teilchen statt. Dieser Vorgang braucht oft deutlich Zeit.

Schon *Lewith* (1) ist es aufgefallen, daß oft erst geraume Zeit nach dem Salzzusatz die Trübungen erscheinen. Mit der Aggregation der Teilchen beginnt sogleich die Wirkung der Schwerkraft augenfälliger zu werden, und die Sedimentation setzt ein. Schon *Bodländer* (16) hat hierbei merkwürdige und interessante Beobachtungen gemacht: Milchzucker und Traubenzucker labilisieren, Rohrzucker dagegen stabilisiert Kaolinsuspensionen. Auch *Quincke* (17) bemerkt, daß für die Stabilität der Suspensionen nicht nur die Elektrolyte, sondern auch die Nichtelektrolyte von Einfluß sind. *Freundlich* und *Rona* (18) fanden, daß die Koagulation von $Fe(OH)_3$ durch Thymol, Campher, Aceton, Urethan begünstigt wird. *P. Rona* und *György* (19) fanden weiter, daß Kaolinsuspensionen durch Nichtelektrolyte zum Teil stabilisiert, zum Teil sensibilisiert werden. *L. von Kürthy* (20) hat am Modell Phenol-Wasser darauf hingewiesen, daß die dielektrischen Verhältnisse bei der Aussalzung eine gewichtige Rolle spielen; sie sind nicht nur ausschlaggebend für die Polarisierbarkeit der auszusalzenden Stoffe, sondern sie spielen auch eine Rolle für die Häufungsgeschwindigkeit der Teilchen. *O. Arnd* (21) konnte bei der Aussalzung der Serumeiweißkörper ferner zeigen, daß durch Coffein, Äthylalkohol, Aceton, Cholesterin und Lecithin infolge von Komplexbildung der Dipolcharakter der Eiweißkörper verändert wird, ihre elektrische Polarisierbarkeit sinkt und die Aussalzbarkeit abnimmt. Umgekehrt scheint Formaldehyd den Dipolcharakter der Eiweißstoffe zu vermehren. Die vorliegende Untersuchung[1] stellt eine Fortsetzung der Arbeiten von *L. v. Kürthy* und von *O. Arnd* dar und bringt einen geringen Beitrag zur Kenntnis der Aussalzung.

II.

In dem Folgenden wurde zunächst die Veränderung der Polarisierbarkeit durch zugesetzte Nichtelektrolyte untersucht. Hierfür schien das System Phenol-Wasser besonders geeignet. Als Maß diente die Aussalzbarkeit des Phenols durch Ammonsulfat. Wir verzichten hier auf eine ausführliche Wiedergabe der Protokolle und geben die mehr als 60 Versuche umfassenden Reihen in Tabelle I wieder. Hierbei sind die Konzentrationen stets auf das konstant gehaltene Gesamtvolumen bezogen. + bedeutet Aussalzung, — bedeutet keine Aussalzung. Das Resultat wurde stets 10 Minuten nach Mischung der Lösungen abgelesen. Gearbeitet wurde bei Zimmertemperatur.

Aus Tabelle I geht hervor, daß Glykokoll, Harnstoff und Aceton eine Zunahme der Aussalzbarkeit des Phenols bewirken. Dies dürfte um so mehr von Interesse sein, als schon *K. Spiro* (22) zeigen konnte, daß Harnstoff den Hitze-Gerinnungspunkt des Serums erhöht, daß aber Glykokoll und Harnstoff, wie wir neuerdings beobachteten, die Aussalzbarkeit der Serumeiweißkörper vermehren. Glycerin und

[1] Die vorliegenden Versuche habe ich im Dezember 1924 in der physiologisch-chemischen Anstalt Basel ausgeführt.

Tabelle I.

Aussalzbarkeit einer 4,3%igen Phenollösung bei Zimmertemperatur durch Ammonsulfat.

$(NH_4)_2SO_4$	11,15 %	8,6 %	6,5 %	5,35 %	4,30 %	2,10 %
Ohne Zusatz	+++	+++	++	±	—	—
4,6 % Glykokoll . . .	+++	+++	++	+	+	—
0,2 % Aceton	+++	+++	++	++	+	—
6 % Harnstoff. . . .	+++	+++	+++	++	+	+
18,4 % C_2H_5OH . .	+++	++	++	—	—	—
17,1 % Glycerin . . .	+	—	—	—	—	—
6 % Traubenzucker .	+++	+++	++	++	—	—
12 % Rohrzucker . .	+++	+++	++	+	—	—

Alkohol vermindern die Aussalzbarkeit des Phenols. Glycerin scheint nach unseren Erfahrungen auch die Aussalzung der Eiweißkörper zu hemmen. Glucose und Rohrzucker scheinen die Aussalzbarkeit nur wenig zu beeinflussen, immerhin zeigt sich eine geringe Tendenz zur Zunahme der Aussalzbarkeit.

Die Abnahme bzw. Zunahme der Aussalzbarkeit durch Zusatz von Nichtelektrolyten kann 1. darauf beruhen, daß infolge der dielektrischen Veränderung des Milieus die relative Polarisierbarkeit des auszusalzenden Stoffes verändert wird, oder 2., wie schon *O. Arnd* (20) für die Eiweißkörper gezeigt hat, der Dipolcharakter des auszusalzenden Stoffes infolge Komplexbildung verändert wird, und schließlich 3., worauf *Hofmeister* hingewiesen hat, daß durch den Nichtelektrolytzusatz die Hydratation vermehrt oder vermindert wird. Auch hier vermochte die optische Untersuchung, wie schon mehrfach (20) (21), Aufschluß über die Komplexbildung zu geben. Die Tabelle II enthält den Brechungsanteil von 5,4 % Phenol in verschiedenen Medien, die spezifische Refraktion des Phenols (= Brechungsanteil von 1 g-% Phenol) und die Differenz bezogen auf Wasser als Normalzustand.

Tabelle II.

Beeinflussung des Brechungsanteils einer 5,4%igen Phenollösung durch verschiedene Zusätze.

	Gesamt $n \cdot 10^{-5}$	Spez. Refraktion $n \cdot 10^{-5}$	Differenz $n \cdot 10^{-5}$
In H_2O	1141	212	0
23 % C_2H_5OH	1135	210	— 2
10,7 % Glycerin	1163	215	+ 3
7,5 % Harnstoff	1082	200	— 12
6 % Glykokoll	1154	214	+ 2
15 % Rohrzucker.	1182	219	+ 7
7,5 % Traubenzucker	1159	214	+ 2
0,25 % Aceton	1159	215	+ 2

Der Fehler der refraktometrischen Bestimmung bertägt etwa $\pm 2{,}6 \cdot 10^{-5}$, für die spezifische Refraktion etwa $\pm 0{,}5 \cdot 10^{-5}$. Nun ist bekanntlich der Brechungsexponent direkt proportional der Zahl der Moleküle (20). Kolumne 2 in der Tabelle II illustriert deutlich, daß Harnstoff die Zahl der Phenolmoleküle vermindert: Harnstoff wirkt polymerisierend. Umgekehrt wird die Zahl der Phenolmoleküle durch Rohrzucker und Glycerin vermehrt; Rohrzucker und Glycerin bewirken eine Depolymerisation.

K. Glenz (23) hat aus dem Verhalten der Refraktion von Phenollösungen bei Salzzusatz auf verschiedene Modifikationen des Phenols in konzentrierten Lösungen geschlossen [vgl. hierzu auch *K. Spiro* (32)]. *J. Livingston, R. Morgan* und *G. Egloff* (24) leiteten schon einige Jahre vorher aus ihren Messungen der Oberflächenspannung, der spezifischen Kohäsion, der Dichte und der Viskosität der Phenollösungen ab, daß verschiedene Hydratformen des Phenols miteinander im Gleichgewicht stehen, und zwar gelangten die Autoren zu folgenden Hydratstufen: $C_6H_5OH \cdot 3\,H_2O$, $C_6H_5OH \cdot 9\,H_2O$ und $C_6H_5OH \cdot 55\,H_2O$. *A. Grollmann* und *J. C. W. Frazer* (25) zeigten an Hand ihrer Messungen des osmotischen Druckes, daß in wässerigen Phenollösungen außerdem folgendes Gleichgewicht besteht:

$$2\,C_6H_5OH \rightleftarrows (C_6H_5OH)_2 \qquad (1)$$

und daß schon von 0,5% Phenol an das Gleichgewicht nach rechts verschoben ist, so daß bei 0,94% bereits 86% in Form des polymeren $(C_6H_5OH)_2$ vorhanden sind und in 8,5%igen Lösungen bei 30°, also an der Grenze der Löslichkeit, bereits 99% in polymerer Form vorhanden sind.

Harnstoff verschiebt also das Gleichgewicht (1) nach rechts, die Löslichkeit nimmt ab und die Aussalzbarkeit steigt; umgekehrt verschiebt Glycerin das Gleichgewicht nach links und wirkt so löslichkeitssteigernd und stabilisierend. Eigentümlich ist das Verhalten der Zucker: Rohrzucker verschiebt das Gleichgewicht stark nach links, Rohrzucker müßte also stabilisierend wirken, auch nach seinem dielektrischen Verhalten wäre dies zu erwarten, Rohrzucker und Traubenzucker vermehren aber, wenn auch nur gering, die Aussalzbarkeit des Phenols. Offenbar überwiegt hier die Hydratation der Rohrzuckermoleküle [*R. Fricke* (26)] die übrigen Wirkungen, so daß sich in erster Linie die Entziehung des Lösungsmittels geltend macht.

Außerdem haben die zugefügten Nichtelektrolyte noch eine dielektrische Wirkung: Harnstoff und Glykokoll erhöhen die Dielektrizitätskonstante des Milieus [Literatur bei (27)], die relative Polarisierbarkeit des Phenols nimmt infolgedessen zu, schon bei geringer Feldstärke, bei kleinerer Ionenkonzentration erreicht die Polarisation jenen Wert, der zur Translation und zur Aggregation der Teilchen an Punkten geringster Feldstärke genügt; mit anderen Worten die Aussalzbarkeit des Phenols nimmt zu; genau dielektrisch im entgegengesetzten Sinne, wirken Glycerin und Alkohol. Abweichend verhält sich nur Aceton. Hier handelt es sich offenbar um kompliziertere Ver-

hältnisse. Einmal beobachtet man bei Zusatz eines Kubikzentimeters einer 10%igen Acetonlösung zu 3 ccm einer gesättigten Phenollösung das Ausfallen weißer Massen, und andererseits ist seit *Link* und *Bargellini* (43) bekannt, daß Phenol mit Aceton a-Phenoxyisobuttersäure unter Abnahme der Löslichkeit bilden kann. Das abweichende Verhalten des Acetons findet deshalb möglicherweise durch seine chemischen Beziehungen zum Phenol teilweise Erklärung.

III.

Das Aussalzen geschieht durch hochkonzentrierte Salzlösungen, mit anderen Worten in die Lösung des Nichtelektrolyten wird stets eine große Elektrizitätsmenge gebracht. Wir beschränken uns in dem Folgenden auf die Salze $MgSO_4$, Na_2SO_4 und $(NH_4)_2SO_4$, als die für die Aussalzung der Eiweißkörper wichtigsten Salze. Es ist hierbei seit altersher üblich, als Maß für die Salzkonzentration den Grad der Sättigung in Prozenten anzugeben. So wird z. B. Euglobulin durch Halbsättigung mit $MgSO_4$ oder durch ein Drittel Sättigung mit $(NH_4)_2SO_4$ ausgesalzen; Gesamtglobulin wird durch Halbsättigung mit $(NH_4)_2SO_4$, durch Ganzsättigung mit $MgSO_4$ oder durch Halbsättigung mit Na_2SO_4 bei 37° ausgesalzen, usw. Bedenkt man, wie schwankend die Angaben über die Löslichkeit der Salze sind und wie außerordentlich abhängig ferner die Sättigungskonzentrationen von Temperatur und kleinsten Verunreinigungen sind, so kann es nicht wundernehmen, daß die verschiedenen Autoren mit ganz verschieden konzentrierten Lösungen gearbeitet haben. Für das Aussalzen der Globuline mit Na_2SO_4 bei über 33° sind z. B. notwendig nach:

Hofmeister (28)	21,3 bis 24,0%
Pinkus (29)	18,8 „ 20,0%
Spiro und *Porges* (30)	22,9%
P. E. Howe (31)	21,5%

Die Verfeinerung der Methodik, besonders die Verwendung der Refraktometrie, Interferometrie und Präzisionspolarimetrie bei der Untersuchung, Charakterisierung und Isolierung der Eiweißkörper, verlangt auch eine bedeutende Präzisierung der aussalzenden Konzentrationen. Es sind viele Unstimmigkeiten, nicht zuletzt auch die verschiedenen Angaben in neuerer Zeit über den spezifischen Brechungszuwachs der Eiweißkörper (21), auf die Verwendung der „½"- und „$^1/_3$"-gesättigten Lösungen zurückzuführen. *P. E. Howe* (33), (31), (34), (35) hat deshalb schon vor 6 Jahren die Mol-Volumen-Konzentration, d. h. die Anzahl Gramm-Mol in einem Liter Lösung, eingeführt, so daß auch seine konzentrierten Salzlösungen nun immer dieselbe, exakt eingestellte Konzentration haben. Die fällenden Konzentrationen an anhydrischem Salz sind nach *Howe*:

	$MgSO_4$	Na_2SO_4	$(NH_4)_2SO_4$
Euglobulin . . .	19,5% = 1,62 m.	14,2% = 1,00 m.	19,8% = 1,50 m.
Gesamtglobulin .	28,6% = 2,37 m.	26,4% = 1,50 m.	26,4% = 2,00 m.
Gesamteiweiß . .		2,75 m.	3,25 m.

Noch vorteilhafter dürfte möglicherweise die Molkonzentration sein, d. h. die Anzahl Gramm-Mol der gelösten Substanz in 55,51 Mol. *Wasser*. Wie *Lewis* hervorhebt, hat die Molkonzentration den Vorteil, daß sie unabhängig ist von der Temperatur, während dies bei der gewöhnlichen Mol-Volumenkonzentration bekanntlich nicht der Fall ist. Wir werden im folgenden von der Molkonzentration Gebrauch machen und bezeichnen sie mit $\overline{m}$., während sich m. auf die Anzahl Mol in einem Liter Lösung beziehen soll.

Nach *Howe* berechnet sich die notwendige Salzkonzentration ausgedrückt in $\overline{m}$. für

	$MgSO_4$	Na_2SO_4	$(NH_4)_2SO_4$
Euglobulin	2,01 $\overline{m}$.	1,17 $\overline{m}$.	1,87 $\overline{m}$.
Gesamtglobulin	3,33 $\overline{m}$.	1,93 $\overline{m}$.	2,71 $\overline{m}$.

Es ist nun auffallend, daß zur Abscheidung ein und desselben Kolloides, z. B. des Euglobulins, je nach dem Salz ganz verschiedene Konzentrationen notwendig sind, auch bei gleichem Anion. *O. Nasse* (4) hat deshalb auch die Vermutung ausgesprochen, daß es sich hierbei um spezifische Beziehungen zwischen dem aussalzenden und dem ausgesalzenen Stoff handeln könnte. Der experimentelle Nachweis dieser Annahme konnte aber bis heute nie einwandfrei geleistet werden.

Nun liegen aber für die Konzentrationen der Sulfate, wie sie zur Aussalzung der Euglobuline verwendet werden, Gefrierpunktsbestimmungen vor, die es uns ermöglichen, einige Aussagen über die aussalzende Wirkung dieser Lösungen zu machen. *Van 't Hoff* hat bekanntlich zur Darstellung des osmotischen Druckes von Elektrolytlösungen in die Gasgleichung den Faktor i eingeführt, d. h. den Quotienten aus der gemessenen Gefrierpunktserniedrigung dividiert in die gedachte Gefrierpunktserniedrigung, die vorhanden wäre, wenn jede Dissoziation fehlen würde. Nachdem nun aber erst kürzlich durch *M. Randall* und *G. N. Scott* (36) nachgewiesen wurde, daß auch die Sulfate, entgegen der allgemein verbreiteten Ansicht, zu den typisch starken, total dissoziierenden Elektrolyten zu zählen sind, scheint es uns zweckmäßig, folgende Größe, die wir mit h bezeichnen wollen, einzuführen: Es sei Δ^0 die gemessene Gefrierpunktserniedrigung und Δ^0_∞ sei die gedachte Gefrierpunktserniedrigung, die vorhanden wäre, wenn es sich um eine ideelle, total dissoziierte Lösung handeln würde, wobei

sich die geladenen Teilchen gegenseitig weder elektrisch noch mechanisch beeinflussen sollen, dann sei

$$h = \frac{\Delta^0}{\Delta^0_\infty}. \tag{2}$$

Aus (2) geht hervor, daß somit $1 - h$ ein Ausdruck der interionischen Kräfte, der Assoziation, der Dissoziation, des Dielektrikums usw., darstellt. Wir haben nun in Tabelle III aus den Gefrierpunktsbestimmungen von *Bedford* (37), *Raoult* (38), *Harkins* (39), *S. H. Rodebush* (40) und *W. Kistiakowsky* (41) h berechnet; Δ^0 ist die gemessene molare Gefrierpunktserniedrigung, $\bar{m}$. ist die Molkonzentration.

Tabelle III.

$MgSO_4$			Na_2SO_4			$(NH_4)_2SO_4$		
$\sqrt[2]{\bar{m}}$.	Δ^0	h	$\sqrt[2]{\bar{m}}$.	Δ^0	h	$\sqrt[2]{\bar{m}}$.	Δ^0	h
0,01	3,70	0,99	0,07	5,09	0,91	0,17	4,90	0,88
0,02	3,64	0,98	0,10	4,95	0,89	0,27	4,50	0,80
0,05	3,10	0,83	0,15	4,81	0,86	0,45	4,09	0,73
0,07	2,98	0,80	0,22	4,59	0,82	0,73	3,87	0,69
0,11	2,76	0,74	0,32	4,35	0,78	0,79	3,60	0,64
0,22	2,42	0,65	0,45	4,06	0,73	0,95	3,70	0,66
0,47	2,06	0,55	0,73	3,68	0,66	1,07	3,60	0,66
0,70	2,02	0,54				1,23	3,59	0,64
1,23	2,08	0,56				1,76	3,35	0,60
1,32	2,24	0,60						
1,64	2,62	0,70						

Die aussalzenden Konzentrationen für Euglobulin sind für $MgSO_4$ 1,42 $\bar{m}^{1/2}$, für Na_2SO_4 1,08 $\bar{m}^{1/2}$, für $(NH_4)_2SO_4$ 1,37 $\bar{m}^{1/2}$. Sucht man nun in Abb. 1 die zugehörigen Ordinaten, so bemerkt man, daß für

1,42 $\bar{m}^{1/2}$ $MgSO_4$ . . . . . $h = 0{,}64$
1,37 $\bar{m}^{1/2}$ $(NH_4)_2SO_4$ . . . . . $h = 0{,}64$
1,08 $\bar{m}^{1/2}$ Na_2SO_4 . . . . . $h = 0{,}64$[1]

Die Euglobuline fallen dann also aus, wenn $h = 0{,}64$ ist, gleichgültig ob es sich um Na_2SO_4, $MgSO_4$ oder $(NH_4)_2SO_4$ handelt. Wir haben oben bei der Definition von h gezeigt, daß $1 - h$ ein Maß für die Gesamtheit aller interionischen Kräfte darstellt. Je kleiner $1 - h$, desto größer die Wirkung bzw. die Zahl der freien Ionen. Man könnte nun nach den oben mitgeteilten Zahlen versucht sein, anzunehmen, ganz analog den Überlegungen der Dissoziationstheorie, daß der Ausdruck $h/1 - h = \Delta^0/\Delta^0_\infty - \Delta^0$ für die aussalzende Eigenschaft der Salze charakteristisch wäre. Dies ist aber nicht der Fall. Geht man in der $MgSO_4$-Kurve nach geringeren Konzentrationen, so bemerkt man,

[1] Extrapoliert.

daß die Kurve bei $\sqrt[2]{m}. = 0{,}21$ wieder die Ordinate 0,64 hat. Bei einer $MgSO_4$-Konzentration von 0,21 $\sqrt[2]{m}.$ (= etwa ½ %) fällt aber überhaupt noch kein Eiweiß aus. Damit ist gezeigt, daß die Größe h zur Charakterisierung der aussalzenden Kräfte noch nicht genügt, sondern hier spielt offenbar *noch eine extensive Größe, die absolute Zahl der nichtfreien Ionen eine ebenso bedeutende Rolle.*

Unter den „nichtfreien Ionen" versteht man solche Ionen, die entweder infolge gegenseitiger Beeinflussung oder infolge starker Hydratation nach „außen" keine ionalen Wirkungen entfalten. Ist also neben h auch die absolute Zahl der nichtfreien Ionen für die Aus-

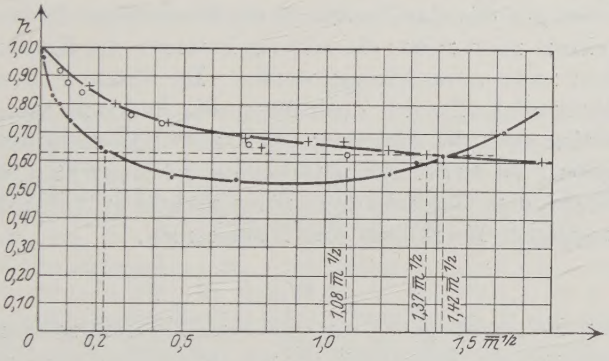

Abb. 1.

salzung maßgebend, so heißt dies in anderen Worten nichts anderes, als daß, da jedem Ion bei einer bestimmten Konzentration eine bestimmte Hydratationszahl zukommt, eine gewisse Menge Lösungsmittel in Form des Hydratationswassers erst verschwinden muß, bevor die Wirkung der polarisierenden, freien Ionen zur Auswirkung kommen kann. Damit gelangen wir, wenn auch auf anderem Wege und vor allem durch quantitative Überlegungen zu verwandten Anschauungen, wie sie *F. Hofmeister* (2) vor 40 Jahren zum Teil bereits entwickelt hatte. *Hofmeister* hatte damals auf Beziehungen des osmotischen Druckes der Elektrolytlösungen zu ihrem Aussalzungsvermögen hingewiesen und das wechselnde Wasseranziehungsvermögen der Salze als gemeinsame Ursache des verschiedenen Verhaltens der Elektrolyte zur Erklärung der Erscheinungen herangezogen. Seiner Hydratationstheorie der Aussalzung erwuchsen dadurch Schwierigkeiten, daß z. B. stark hydratisierte Elektrolyte wie Li_2SO_4 weniger aussalzend wirken, als z. B. Na_2SO_4 mit geringerer Hydratation. Wir haben nun oben gezeigt, daß für den Aussalzungseffekt notwendig ist 1. nicht nur eine gewisse Verminderung an freiem Lösungsmittel infolge der Hydratation, sondern auch 2. eine gewisse Polarisation des Eiweißes durch die freien Ionen.

Damit dürften die Schwierigkeiten der Hydratationstheorie zum größten Teil überwunden sein.

Wir haben bis jetzt nur von der Größe h gesprochen und es bis jetzt sorgfältig vermieden, von der Aktivität der Salzlösungen zu reden. Dies geschah deshalb, weil für die hochkonzentrierten Elektrolytlösungen ($\frac{1}{2}$- und $^1/_1$-Sättigung) die Berechnung der Aktivität, d. h. der freien Energie der Ionen, noch nicht möglich ist, da wir über die Verdünnungswärme und über die Temperaturkoeffizienten der konzentrierten Lösungen ungenügend unterrichtet sind; außerdem spielt in den konzentrierten Lösungen die Größe der Ionen im Verhältnis zum Lösungsraum eine nicht mehr zu vernachlässigende Rolle. Infolgedessen gilt das *Gay-Lussac*, *Boyle-Mariotte*sche Gesetz in seiner einfachen Form nicht mehr; die höheren Potenzen der Konzentrationen dürfen nicht mehr vernachlässigt werden. Die Größe h ist also größer als der Aktivitätskoeffizient, doch dürfte die Änderung von h mit der Konzentration auch der Änderung des Aktivitätskoeffizienten ziemlich parallel gehen. Je verdünnter natürlich die Lösungen sind, desto mehr nähern sie sich dem Idealfall, desto näher rückt h an 1 und desto mehr fallen osmotischer Koeffizient und h zusammen.

IV.

In dem Folgenden geben wir eine kurze Zusammenfassung unserer Anschauung von der Aussalzung, die wir auf Grund dieser und früherer Arbeiten gewonnen haben (20), (21), (27), (42).

Für die Aussalzung ist wesentlich, daß eine große Menge Ionen, mit anderen Worten eine große Elektrizitätsmenge, in die wässerige Lösung des Nichtelektrolyten eingetragen wird. Ein Teil dieser Ionen besteht aus freien Ionen, ihre Konzentration bezeichnet man als aktive Masse. In der Umgebung dieser freien Ionen bestehen starke elektrische Felder, wodurch die Umgebung, Lösungsmittel und gelöster Stoff, polarisiert werden. Hierfür gilt bekanntlich, wie früher dargelegt wurde (27),

$$P = E \cdot \frac{D-1}{4\pi}, \tag{3}$$

wobei

P = Polarisation,
D = Dielektrizitätskonstante,
E = Elektrische Feldstärke,
π = 3,14 . . . . .

Die relative Polarisierbarkeit des gelösten Stoffes, d. h. dessen Polarisierbarkeit im Verhältnis zur Polarisierbarkeit des Lösungsmittels hängt ab:

1. vom Dipolcharakter des gelösten Stoffes und
2. von den dielektrischen Eigenschaften des Lösungsmittels.

Wir haben in der vorliegenden Untersuchung und in früheren Arbeiten für beide Abhängigkeiten Beispiele beigebracht. Meist liegen die Verhältnisse so, daß der auszusalzende Stoff die geringere Dielektrizitätskonstante hat als das Lösungsmittel. Infolge der Polarisation der Teilchen des auszusalzenden Stoffes bewegen sich diese im elektrischen Felde der freien Ionen nach Orten geringster Feldstärken. Es hängt nun lediglich von der absoluten Zahl der nichtfreien Ionen ab, bzw. von der Größe des Entzuges freien Lösungsmittels infolge der Hydratation, ob die Anhäufung der Teilchen des auszusalzenden Stoffes an Orten geringster Feldstärke bis zur sichtbaren Zweiphasenbildung, also zur Aussalzung führt, oder ob lediglich eine andere Verteilung mit eventueller Polymerisation ohne sichtbare Zustandsänderung statthat.

Literatur.

1) *S. Lewith*, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm. **24**, 1, 1888. — 2) *F. Hofmeister*, ebendaselbst **24**, 247, 1888. — 3) *Derselbe*, ebendaselbst **25**, 1, 1889. — 4) *O. Nasse*, Pflügers Arch. **41**, 504, 1887. — 5) *K. Spiro*, Habilitationsschrift Straßburg 1897. — 6) *Derselbe*, Hofmeisters Beitr. **4**, 300, 1903. — 7) *W. Nernst*, Zeitschr. f. physik. Chem. **38**, 487, 1901. — 8) *Griesbach*, ebendaselbst **97**, 22, 1921. — 9) *N. Schilow*, ebendaselbst **101**, 353, 1922. — 10) Literatur bei Nr. 21. — 11) *Brönsted*, Journ. Amer. Chem. Soc. **42**, 76, 1920; **42**, 1448, 1921; **43**, 2266, 1921; **44**, 877, 1922. — 12) *N. Bjerrum*, Ergebn. d. exakt. Naturw. **5**, 125, 1926. — 13) *Harkens*, Journ. Amer. Chem. Soc. **33**, 1807, 1911 und folg. — 14) *Hückel*, Ergebn. d. exakt. Naturw. **3**, 199, 1924 (Literatur). — 15) *G. N. Lewis*, Thermodynamics 1923 (Literatur). — 16) *Bodländer*, N. Jahrb. f. Min. **2**, 147, 1893. — 17) *Quincke*, Anal. d. Phys. **312**, 57, 1902. — 18) *H. Freundlich* und *Rona*, diese Zeitschr. **81**, 87, 1917. — 19) *Rona* und *György*, ebendaselbst **105**, 133, 1920. — 20) *L. v. Kürthy*, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm. **104**, 148, 1924. — 21) *O. Arnd*, diese Zeitschr. **167**, 440, 1926. — 22) *K. Spiro*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **30**, 182, 1900. — 23) *K. Glenz*, Helvetica **6**, 826, 1923. — 24) *I. Livingstone, R. Morgan, O. Egloff*, Journ. Amer. Chem. Soc. **38**, 844, 1916. — 25) *A. Grolman* und *J. C. W. Frazer*, ebendaselbst **45**, 1705, 1923. — 26) *R. Fricke*, Kolloid.-Zeitschr. **35**, 264, 1924. — 27) *E. A. Hafner*, Ergebn. d. Physiol. **24**, 566, 1925. — 28) *F. Hofmeister*, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm. **24**, 257, 1888. — 29) *Pinkus*, Journ. Physiol. **27**, 57, 1901. — 30) *Spiro* und *Porges*, Hofmeisters Beitr. **3**, 277, 1902. — 31) *P. E. Howe*, Journ. of biol. chem. **57**, 241, 1923. — 32) *K. Spiro*, Pflügers Arch. **205**, 15, 1924. — 33) *P. E. Howe*, Journ. of biol. chem. **49**, 109, 1921. — 34) *Derselbe*, ebendaselbst **49**, 93, 1921. — 35) *Derselbe*, Physiol. Rev. **5**, 349, 1925. — 36) *M. Randall* und *G. N. Scott*, Journ. Amer. Chem. Soc. **49**, 647, 1927. — 37) *Bedford*, Proc. Roy. Soc. **83**, 459, 1910. — 38) *Raoult*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **2**, 489, 1888. — 39) *Harkins*, Journ. Amer. Chem. Soc. **38**, 2672, 1920. — 40) *W. H. Rodebush*, ebendaselbst **40**, 1209, 1918. — 41) *W. C. Kstiakowsky*, Zeitschr. f. physik. Chem. **6**, 169, 1890. — 42) *E. A. Hafner*, diese Zeitschr. **105**, 29, 1925. — 43) Gazetta Chimica Italia **36**, II, 333.